

(19)日本国特許庁（J P）

(12) 公 開 特 許 公 報（A）

(11)特許出願公開番号

特開平7－82225

(43)公開日 平成7年(1995)3月28日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 C 233/47		7106－4H		
A 6 1 K 31/195	A D U	9454－4C		
38/00				
C 0 7 C 233/49		7106－4H		
			A 6 1 K 37/ 02	
	審査請求	未請求	請求項の数6	O L （全 7 頁） 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平5－228641	(71)出願人	000005201 富士写真フイルム株式会社 神奈川県南足柄市中沼210番地
(22)出願日	平成5年(1993)9月14日	(72)発明者	西川 尚之 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真 フイルム株式会社内
		(72)発明者	駒澤 宏幸 埼玉県朝霞市泉水3丁目11番46号 富士写 真フイルム株式会社内
		(72)発明者	岡田 久 神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真 フイルム株式会社内
		(74)代理人	弁理士 中村 稔 （外6名） 最終頁に続く

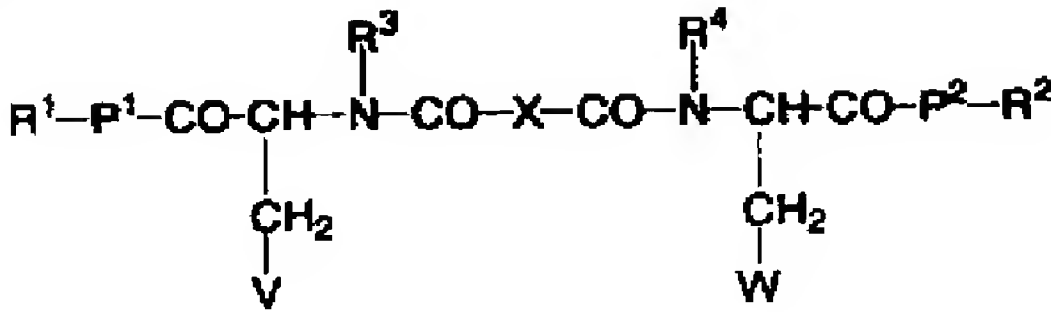
(54)【発明の名称】 アミノ酸誘導体及びその用途

(57)【要約】

【目的】 高い癌転移抑制活性、細胞接着阻害活性および細胞移動阻害活性を持つアミノ酸誘導体およびそれを有効成分としてなる癌転移抑制剤、細胞接着阻害剤および細胞移動阻害剤を提供する。

【構成】 下記、一般式（I）で示されるアミノ酸誘導体、またはその薬理学的に許容される塩、ならびにそれを有効成分としてなる癌転移抑制剤、細胞接着阻害剤および細胞移動阻害剤。一般式（I）

【化1】



式中、Xは炭素数1～3の直鎖または分岐のアルキレン基、炭素数4～8の環状アルキレン基あるいはフェニレン基を示し、V、Wは－COOHあるいは－CONH<sub>2</sub>を示し、P<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>はアミノ酸残基あるいはペプチド残基

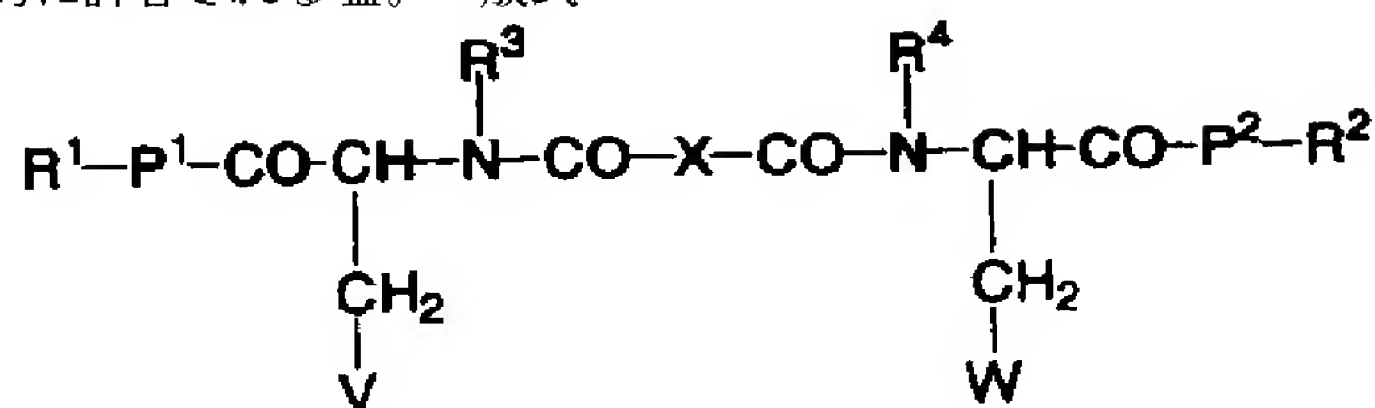
を示し、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>は水酸基または有機基を示し、R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>は水素原子あるいはアルキル基を示す。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記、一般式（I）で示されるアミノ酸誘導体、またはその薬理的に許容される塩。一般式 \*

\* ( I )

【化1】



式中、Xは炭素数1～3の直鎖または分岐のアルキレン基、炭素数4～8の環状アルキレン基あるいはフェニレン基を示し、置換基、不飽和基を有していてもよい。Xは存在してもしなくてもよい。V、Wは $-COOH$ あるいは $-CONH_2$ を示す。V、Wは互いに同じでも異なっているてもよい。P<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>はアミノ酸残基あるいはペプチド残基を示す。P<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>は互いに同じでも異なっているてもよく、存在してもしなくてもよい。R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>は水酸基または有機基を示す。R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>は互いに同じでも異なっているてもよい。R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>は水素原子あるいはアルキル基を示す。R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>は互いに同じでも異なっているてもよい。式中に存在する不斉炭素原子の立体配置に関しては、各々R、S、RSのいずれでもよい。

【請求項2】  $R^1$ 、 $R^2$ が水酸基であり、 $R^3$ 、 $R^4$ が水素原子である請求項1記載の化合物。

【請求項3】 一般式（I）で示されるアミノ酸誘導体またはその薬理学的に許容される塩を共有結合により高分子あるいは有機分子に複数個連結してなる化合物。

【請求項4】 請求項1～3のいずれかに記載の化合物を含有してなる癌転移抑制剤。

【請求項5】 請求項1～3のいずれかに記載の化合物を含有してなる細胞接着阻害剤。

【請求項6】 請求項1～3のいずれかに記載の化合物を含有してなる細胞移動阻害剤。

### 【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【産業上の利用分野】本発明は、高い癌転移抑制効果、細胞接着阻害活性、および細胞移動阻害活性を示すアミノ酸誘導体に関する。

【0002】

【従来の技術】フィブロネクチンやビトロネクチンは細胞と細胞外基質の接着に関与する細胞外マトリックス分子と呼ばれるタンパク質である。最近、これらの相互作用は一連の細胞表面のレセプターにより仲介されていることが明らかとなった。そして、フィブロネクチンの細胞結合ドメイン中のArg-Gly-Asp配列が認識部位であることが明らかにされ（ネイチャー(Nature)、第309巻、30頁、1984年）、その細胞受容体の一つがインテグリンファミリーに属するVLA-5レセプターであることが報告されている。さらに、Arg-Gly-Asp配列はビトロネクチン等の他の接着性蛋白質にも存在していることが知

10※られている。また、細胞外マトリックス分子は上記配列を介して、被接着細胞のレセプターと接合し、その情報を接着細胞に伝達するといわれている。さらに、ヘパリン、コラーゲン、フィブリン等の生体高分子との結合能も有し、細胞と間質結合組織との接着、細胞の分化、増殖に参与しているとも考えられている。

【0003】一方、これらの細胞外マトリックス分子は癌の転移過程において癌細胞の接着、遊離の制御にも関与していると予想されている。そこで、認識部位である Arg-Gly-Asp 配列を持つペプチドを用いて癌細胞の転移を阻害する試みが報告されている。例えば Yamada らは、フィブロネクチンの接着シグナルであるペンタペプチド (Gly-Arg-Gly-Asp-Ser) が転移性癌細胞である B 1 6 - F 1 0 メラノーマ細胞の肺への実験的転移を抑制することを示した (サイエンス (Science)、第233巻、467 頁、1986年)。さらに、この配列を有するオリゴペプチドあるいはその繰り返し構造を有するポリペプチドを用いて、より効率的に癌転移を抑制する方法が開示されている (インターナショナル ジャーナル オブ バイオリジカルマクロモレキュルズ (Int. J. Biol. Macromol.)、第11巻、23頁、1989年、同誌、第11巻、226 頁、1989年、ジャパン ジャーナル オブ キャンサー リサーチ (Jpn. J. Cancer Res.) 第60巻、722 頁、1989 年、特開平2-174798号)。

【０００４】しかしながら、Arg-Gly-Asp配列を持つこれらのオリゴペプチドの活性は十分ではなく解決すべき課題として残されていた。

【0005】さらに、エチレンジアミン四酢酸の共存下においてフィブロネクチン等の細胞接着作用が阻害されることが知られていた。しかしながら、エチレンジアミン四酢酸あるいはそのナトリウム塩であるエデト酸二ナトリウムの急速な静脈内投与は低カルシウム性テタニー、痙攣等を起こす危険があった。また、これらの薬剤を長期投与することは潜在毒性が問題で困難と考えられていた。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、高い癌転移抑制活性、細胞接着阻害活性、および細胞移動阻害活性を持つアミノ酸誘導体およびそれを有効成分としてなる癌転移抑制剤、細胞接着阻害剤、および細胞移動阻害剤を提供することにある。

3

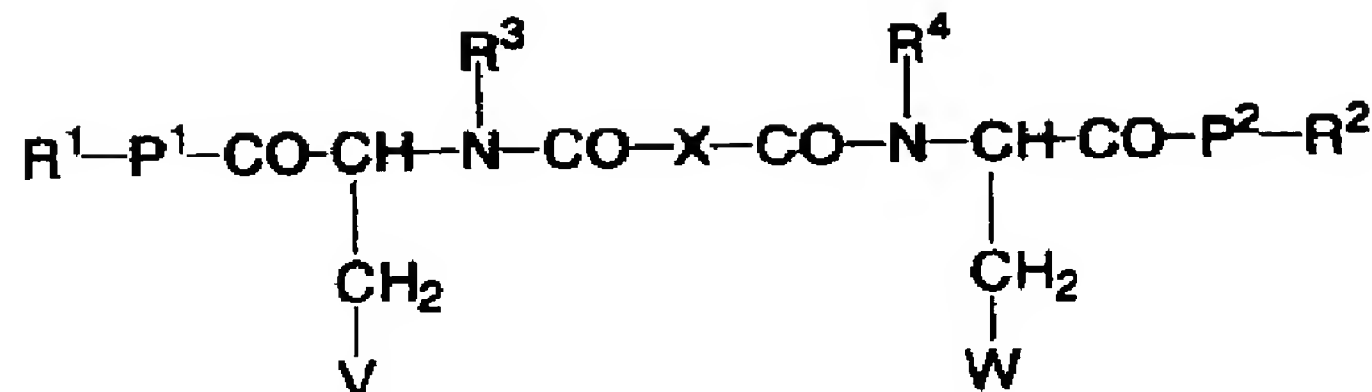
4

【0007】

【課題を解決するための手段】上記課題に対して、本発明者らはアミノ酸誘導体の探索を行なった結果、従来の Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS) と比較して、非常に高い癌転移抑制効果を持つ新規アミノ酸誘導体を見出し本発明を完成するに至った。

\* 【0008】即ち本発明は、1) 下記一般式(I)で示されるアミノ酸誘導体、またはその薬理学的に許容される塩および、2) 一般式(I)で示されるアミノ酸誘導体またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含有する癌転移抑制剤を提供する。一般式(I)

【化2】



式中、Xは炭素数1から3の直鎖または分岐のアルキレン基、炭素数4～8の環状アルキレン基あるいはフェニレン基を示し、置換基、不飽和基を有していてもよい。Xは存在してもしなくてもよい。好ましいXとしては、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{C}_6\text{H}_4-$ が挙げられる。特に好ましいXは、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ である。Xが存在しないことも好ましい。V、Wは $-\text{COOH}$ あるいは $-\text{CONH}_2$ を示す。V、Wは互いに同じでも異なっているともよい。好ましいV、Wは $-\text{COOH}$ である。P<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>はアミノ酸残基あるいはペプチド残基を示す。P<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>は互いに同じでも異なっているともよく、存在してもしなくてもよい。アミノ酸残基であるP<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>の好ましい例としてはアスパラギン酸残基、グルタミン酸残基が挙げられる。また、P<sup>1</sup>、P<sup>2</sup>がペプチド残基である場合、その配列中にアスパラギン酸残基、グルタミン酸残基を含むことが好ましい。R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>は水酸基あるいは有機基を示す。R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>は互いに同じでも異なっているともよく、好ましくは水酸基を示す。R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>が有機基の場合はメチルアミノ基、トリーブチルアミノ基、ベンジルアミノ基、およびヘテロ環が好ましい。また、R<sup>1</sup>が有機基である場合、P<sup>1</sup>が存在し、そのP<sup>1</sup>がアスパラギン酸残基あるいはグルタミン酸残基であることが好ましい。同様に、R<sup>2</sup>が有機基である場合、P<sup>2</sup>が存在し、そのP<sup>2</sup>がアスパラギン酸残基あるいはグルタミン酸残基であることが好ましい。R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>は水素原子あるいはアルキル基を示す。R<sup>3</sup>、R<sup>4</sup>は互いに同じでも異なっているともよく、好ましくは水素原子を示す。式中に存在する不斉炭素原子の立体配置に関しては、各々R、S、RSのいずれでもよい。また、好ましい塩としては、塩酸塩、酢酸塩、硫酸塩、乳酸塩などが挙げられる。

【0009】さらに、一般式（I）で示されるアミノ酸誘導体またはその薬理学的に許容される塩を連結基を介して共有結合により高分子担体あるいは一定分子量である有機分子に複数個連結してなる化合物及びそれを有効成分として含有する癌転移抑制剤も本発明の範囲に包含される。このような化合物において一般式（I）で示さ※50

※れるアミノ酸誘導体またはその薬理学的に許容される塩の担体となる有機分子としては、フタル酸、トリメシン酸、テトラヒドロフランテトラカルボン酸、ポリメタクリル酸、カルボキシメチルキチン、硫酸化カルボキシメチルキチン、ポリリジン、キトサン等が挙げられる。連結基としてはエチレンジアミン、リジン等が挙げられる。担体への連結法としては、例えば、連結基としてエチレンジアミン、リジン等を介して一般式（I）で示されるアミノ酸誘導体と担体のカルボキシル基をアミド結合で連結する方法が挙げられる。また、ポリリジン、キトサンなどのアミノ基と直接、あるいは連結基としてβアラニン等を介してアミド結合で連結してもよい。ただし、本発明の高分子担体、一定分子量を持つ有機分子、および連結基はこれらに限られるものではない。

【0010】本発明の化合物は後記に示すように高い癌転移抑制効果、細胞移動阻害効果を示し、またこのような効果を示す作用機序からみて、細胞接着阻害効果をも示すことは明らかである。以下、本発明の化合物の合成等についてさらに説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、以下の説明および実施例においてアミノ酸、保護基、活性基などについてIUPAC-IUB commission on Biological Nomenclatureに基づく略号および当該分野における慣用略号で表示する場合がある。

【0011】本発明の化合物は、例えば二当量の側鎖およびカルボキシル基が適当な基で保護されたアスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、あるいはこれらの相当する誘導体と一当量の相当するジカルボン酸と縮合し、次に、脱保護および精製を経て脱塩および塩形成を行ない合成することができる。

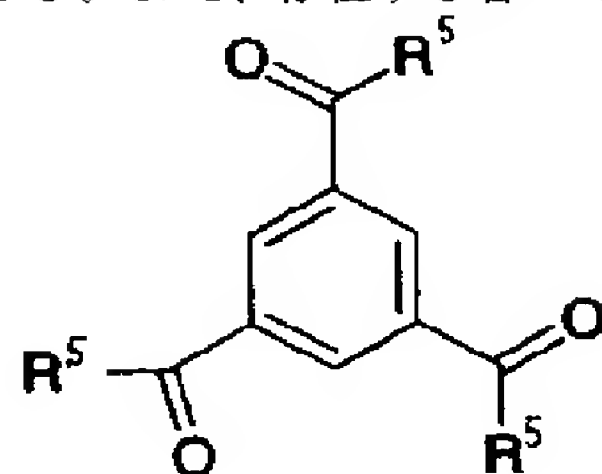
【0012】本方法における、相当する保護アミノ酸、あるいは保護アミノ酸誘導体と相当するジカルボン酸との縮合には、DCC法、DCC-additive法、CDI法、DPPA法等を使用することができる。また本発明の化合物は、ジカルボン酸またはジカルボン酸無水物と一方の保護アミノ酸誘導体あるいはペプチド保護体を反応して半アミド体とした後に、他方の保護アミノ酸誘導体あるいはペプチド保護体を縮合させて合成する。



5

こともできる。ジカルボン酸を用いる場合、一方の保護アミノ酸誘導体あるいはペプチド保護体に対して2当量から10当量のジカルボン酸を用いるのが好ましい。さらに、相当するジカルボン酸ジハライドと相当するアミノ酸誘導体を反応させて合成してもよい。

【0013】脱保護に関しては、用いた保護基に大きく依存する。ベンジル系保護基を用いた場合、Pd、Pt系触媒を用いた接触加水素分解が特によい結果を与えた。また、トリフルオロメタンスルホン酸-チオアニソール系、1M-トリフルオロメタンスルホン酸、チオアニソール、m-クレゾールのトリフルオロ酢酸溶液を用いることも好ましい。しかし、用いた保護基によりさらに多様な手段が可能である。得られた本発明の化合物の精製法として、再結晶法、ゲルろ過法、カラムクロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー等、一般的なペプチドの精製法が採用される。脱塩、塩形成に関しては、イオン交換樹脂を用いる方法が特に容易である。また、HPLCあるいは中圧液体クロマトグラフィーにより脱塩、塩形成とともに精製を行うことができる。また、存在する各々の不斉炭素の立体\*



化合物12  $CH_3-NH-Asp_{rev}-Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp-Asp-NH-CH_3$

化合物13  $C(CH_3)_3-NH-Asp_{rev}-Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp-Asp-NH-C(CH_3)_3$

式中、"rev"はアミノ酸残基が逆配列で連結していることを示す。 $-CO-CH=CH-CO-$ はマレイン酸残基、 $-CO-C_6H_4-CO-$ はフタル酸残基を示す。

【0015】以下に本発明の化合物の実施例を示すが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0016】

【実施例】

実施例1 「化合物1の合成例」

アスパラギン酸ジベンジルエステルパラトルエンスルホン酸塩 50g (0.10mol)をジクロロメタン 150mlに溶解し、トリエチルアミン 31g (0.31mol)を加え撹拌した。氷冷下にてオキサリルクロライド 6.5g (0.051mol)のジクロロメタン溶液30mlを滴下した。一時間反応させた後、反応液を水で洗い、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下にて溶媒を留去し、残留物をシリカゲルクロマトグラフィー(溶離液:ジクロロメタン)にて精製し保護体11gを得た。保護体をメタノール、酢酸、水(40:10:5)300mlに溶解し、パラジウムカーボン 2gを加え室温にて6時間加水素分解を行なつ※50

6

\*配置を制御する場合はそれぞれ相当する立体配置を有する保護アミノ酸および保護アミノ酸誘導体を用いればよい。

【0014】以下に本発明の化合物の特に好ましい具体例を示すが、本発明はこれらに限定されるものではない。

化合物1  $Asp_{rev}-CO-CO-Asp$

化合物2  $Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp$

化合物3  $Asp_{rev}-CO-CH_2-CH_2-CO-Asp$

10 化合物4  $Asp_{rev}-CO-CH=CH-CO-Asp$

化合物5  $Asp_{rev}-CO-C_6H_4-CO-Asp$

化合物6  $Asn_{rev}-CO-CH_2-CO-Asn$

化合物7  $CH_3NH-Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp$

化合物8  $Asp_{rev}-Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp-Asp$

化合物9  $Glu_{rev}-Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp-Glu$

化合物10  $Ph_{rev}-Asp_{rev}-Asp_{rev}-CO-CH_2-CO-Asp-Asp-Ph$

化合物11

【化3】

※た。反応液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去した。得られた結晶を冷水にて洗浄し、化合物1 2.0gを得た。

30 FAB Mass : 321 (M+H<sup>+</sup>)

<sup>1</sup>H-NMR(D<sub>2</sub>O, δ) : 2.58-2.80 (4H, m), 4.00-4.50 (2H, m)

CHN Anal : Calcd.: H, 3.78; C, 37.51; N, 8.75

Found : H, 3.72; C, 37.51; N, 8.75

【0017】実施例2「化合物2の合成例」

アスパラギン酸ジベンジルエステルパラトルエンスルホン酸塩 48.6g (0.10mol)、マロン酸 5.15g (0.05mol)をジクロロメタン 200mlに溶解し、トリエチルアミン 10.1g (0.11mol)を滴下した。反応液を-5度に冷却し、ジシクロヘキシルカルボジイミド 21.7gのジクロロメタン溶液 50mlを加えて一時間撹拌した後、室温で三時間撹拌した。反応液に酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液で洗った後、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下にて溶媒を留去し、残留物を酢酸エチルで再結晶して保護体 20gを得た。保護体をメタノール、酢酸、水(40:10:5)500mlに溶解し、パラジウムカーボン 2gを加え室温にて6時間加水素分解を行なった。反応液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去し、化合物2 7.0gを得た。

FAB Mass : 335 (M+H<sup>+</sup>)

7

$^1\text{H-NMR}$ (D<sub>2</sub>O,  $\delta$ ) : 2.98(4H, d), 3.40 (2H, S), 4.81 (2H, t)

CHN Anal : Calcd.: H, 4.58; C, 37.50; N, 7.95

Found : H, 4.41; C, 37.71; N, 7.96

【0018】実施例3 「化合物3の合成」

コハク酸を用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 349 (M+H<sup>+</sup>)

$^1\text{H-NMR}$ (D<sub>2</sub>O,  $\delta$ ) : 2.58(4H, s), 2.96(4H, d), 4.81 (2H, t)

【0019】実施例4 「化合物4の合成」

マレイン酸を用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 347 (M+H<sup>+</sup>)

$^1\text{H-NMR}$ (D<sub>2</sub>O,  $\delta$ ) : 2.96(4H, d), 4.81 (2H, t), 6.38(2H, d)

【0020】実施例5 「化合物5の合成」

フタル酸を用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 397 (M+H<sup>+</sup>)

$^1\text{H-NMR}$ (D<sub>2</sub>O,  $\delta$ ) : 2.96(2H, d), 4.81 (2H, t), 7.65(4H, s)

実施例6 「化合物6の合成」

Asn-OBzl塩酸塩を用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 333 (M+H<sup>+</sup>)

実施例7 「化合物7の合成」

アスパラギン酸ジベンジルエステルパラトルエンスルホン酸塩4.9 g (0.01mol)、マロン酸5.15 g (0.05mol) をジクロロメタンに溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド2.17 g (0.11mol) を加え室温で攪拌した。不溶物をろ別して反応液を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下にて溶媒を留去した後、再びジクロロメタンに溶解し、ジシクロヘキシルカルボジイミド2.17 g (0.11mol)、アスパラギン酸 $\beta$ -ベンジルエステルメチルアミド2.7 g (0.01mol) を加え室温で攪拌した。不溶物をろ別して反応液を10%クエン酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下にて溶媒を留去して残留物をシリカゲ\*

8

\*ルクロマトグラフィーにより精製し(溶離液、酢酸エチル)、保護体4.3 gを得た。得られた保護体をメタノール、酢酸、水(40:10:5) 50mlに溶解し、パラジウムカーボン0.5 gを加えて室温にて6時間加水素分解を行なった。反応液をセライトろ過し、溶媒を減圧留去して化合物7を1.2 gを得た。

FAB Mass : 348 (M+H<sup>+</sup>)

実施例8 「化合物8の合成」

Asp(Obzl)-Asp(Obzl)-Obzl塩酸塩を用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 565 (M+H<sup>+</sup>)

実施例9 「化合物9の合成」

Asp(Obzl)-Glu(Obzl)-Obzlを用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 593 (M+H<sup>+</sup>)

実施例10 「化合物10の合成」

Asp(Obzl)-Asp(Obzl)-Pheを用いて実施例2と同様に合成した。

FAB Mass : 859 (M+H<sup>+</sup>)

20 【0021】実施例11 「B16-BL6メラノーマ細胞実験的肺転移試験」

本発明の化合物類の癌転移抑制作用について検討した。被験物質と非常に転移性の強い癌細胞であるB16-BL6メラノーマ細胞を各々PBS中で混合後、その0.2 mlを1群5匹のC57BL/6の雌マウスに静脈注射した。注射された混合物0.2 ml中にはB16-BL6細胞が $5 \times 10^4$ 個含まれていた。投与14日後にマウスの肺コロニー数を数えて対照のPBS投与群と比較した。結果を以下の表に示す。

尚、比較試料として癌転移抑制効果が知られているフィブロネクチン部分ペプチドArg-Gly-Asp-Ser (RGDS)、またはGly-Arg-Gly-Asp-Ser (GRGDS) ペプチド、およびキレート作用を持つEDTA、EDTAジアミドを用いた。

【表1】

表1

被験試料	投与量 ( $\mu\text{g}$ /マウス)	転移肺コロニー数 平均 $\pm$ SD (範囲)
PBS	— — — —	101 $\pm$ 28 (61-133)
GRGDS	500	93 $\pm$ 45 (44-154)***
化合物1	500	16 $\pm$ 9 (7-32)***
化合物2	500	20 $\pm$ 7 (9-29)***
EDTA	500	死亡
EDTA diamide	500	死亡

t 検定 : \*\*\* P<0.001, \*\* P<0.01, \* P<0.02

【表2】

表2

被験試料	投与量 ( $\mu\text{g}$ /マウス)	転移肺コロニー数 平均 $\pm$ SD (範囲)
PBS	----	81 $\pm$ 23 (53-117)
RGDS	1000	89 $\pm$ 23 (55-122)
化合物2	500	30 $\pm$ 17 (18-62)***

t検定: \*\*\*P<0.001、\*\* P<0.01、\* P<0.02

【表3】

10

表3

被験試料	投与量 ( $\mu\text{g}$ /マウス)	転移肺コロニー数 平均 $\pm$ SD (範囲)
PBS	----	139 $\pm$ 58 (62-219)
RGDS	1000	116 $\pm$ 43 (58-163)
化合物3	500	25 $\pm$ 10 (12-43)***
化合物4	500	20 $\pm$ 6 (10-28)***
化合物5	500	81 $\pm$ 40 (43-136)

t検定: \*\*\*P<0.001、\*\* P<0.01、\* P<0.02

【0022】実施例12 「L5178Y-ML25

T-リンパ腫細胞実験的肺転移試験」

被験物質とL5178Y-ML25 T-リンパ腫細胞を各々PBS中で混合後、その0.2mlを1群5匹のCDF1マウスに静脈注射した。注射された混合物0.2ml中にはL5178Y-ML25 T-リンパ腫細胞が $4 \times 10^4$ 個含まれていた。投与\*

\* 14日後にマウスの肝臓および脾臓の重量を対照のPBS投与群と比較した。結果を表4に示す。尚、比較試料として癌転移抑制効果が知られているフィブロネクチン部分ペプチドArg-Gly-Asp-Ser (RGDS) ペプチドを用いた。

【表4】

表4

被験試料	投与量 ( $\mu\text{g}$ /マウス)	肝臓重量 平均 $\pm$ SD	脾臓重量 平均 $\pm$ SD
PBS	----	4.30 $\pm$ 0.93	0.25 $\pm$ 0.03
化合物2	1000	2.52 $\pm$ 1.03***	0.19 $\pm$ 0.05***
RGDS	1000	4.43 $\pm$ 0.21	0.26 $\pm$ 0.01
癌細胞未投与	----	1.05 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01

t検定: \*\*\* P<0.001、\*\* P<0.01

【0023】実施例13 「B16-BL6メラノーマ細胞実験的侵潤試験」

トランスウェルセルカルチャーチャンバーの上層表面に5 $\mu\text{g}$ の再構成基底膜マトリジェルをコートし、下層表面に5 $\mu\text{g}$ のフィブロネクチンをコートした。 $2 \times 10^5$  / 100 $\mu\text{l}$  / チャンバーのB16-BL6メラノーマ ※

40※細胞をチャンバー上層に加え、被験物質存在下あるいは非存在下にて3時間培養した。フィルター下部表面に移動した細胞数を顕微鏡下で計測し、細胞侵潤の指標とした。結果を表5に示す。

【表5】

表5

被験試料	試験濃度 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	移動細胞数 平均 $\pm$ SD
------	-------------------------------------	----------------------

11

12

PBS	----	45±2
RGDS	1000	45±4
化合物1	1000	9±3**
化合物2	1000	36±6

t検定: \*\*\*P&lt;0.001、\*\* P&lt;0.01、\* P&lt;0.02

【0024】以上の結果から、本発明の化合物の非常に高い癌転移抑制効果、細胞移動阻害効果は明らかである。

【0025】本発明のアミノ酸誘導体およびその薬理的に許容される塩は、その少なくとも一種を、場合により慣用の担体または医薬用助剤とともに、癌転移抑制剤、として患者に投与することが可能である。その投与量は、一日あたり0.2μg/kg～600mg/kg（体重）の範囲で、患者の症状、年齢、体重等に基づいて決定される。本発明の化合物またはその塩は、ペプチド系医薬に一般に使用されている投与方法、即ち非経口投与方法、例えば静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与等によって投与するのが好ましい。そのような注射用製剤を製造する場合、本発明の化合物またはその塩を例えば、PBSまたは生理食塩水に溶解して、注射用製剤と\*

\*してもよく、あるいは0.1N程度の酢酸水等に溶解した後、凍結乾燥製剤としてもよい。このような製剤には、グリシンやアルブミン等の慣用の安定剤を添加してもよい。さらに、本発明の化合物またはその塩は、例えばリポソーム中に包容したマイクロカプセル剤あるいはミクロスフェア状、ハイドロゲル状とすれば経口投与することも可能であり、座剤、舌下錠、点鼻スプレー剤等の形にすれば消化管以外の粘膜からも吸収させることも可能である。

【0026】

【発明の効果】本発明の化合物は従来の細胞接着性ペプチド（RGDS、GRGDS）と比較して、かつ、非常に高い癌転移抑制活性を有している。したがって、癌細胞の転移抑制作用に対して選択性を持ち、癌転移抑制剤として特に有用である。

フロントページの続き

(51)Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 C	233/56	7106-4H		
	233/83	7106-4H		
	237/22	7106-4H		
C 0 7 K	5/072	8318-4H		
	5/093	8318-4H		

(72)発明者 稲葉 正  
神奈川県南足柄市中沼210番地 富士写真  
フイルム株式会社内

(72)発明者 済木 育夫  
北海道札幌市厚別区厚別北3条西5丁目12  
-6

(72)発明者 東 市郎  
北海道札幌市南区真駒内上町5丁目3-2